

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)03-0054-06  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.03.011



## Box - Behnken 响应面法优选贯叶金丝桃中总酚和总黄酮提取工艺\*

周坤, 马良<sup>△</sup>, 刘春芳, 郭岳瀚, 陈慧

(湖北省武汉市精神卫生中心·湖北省武汉市心理医院, 湖北 武汉 430012)

**摘要:**目的 优选贯叶金丝桃中总酚和总黄酮的提取工艺。方法 分别采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠[NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaOH]法和福林酚(Folin-Ciocalteu)试剂法显色, 采用紫外-分光光度法分别于760 nm和510 nm波长处测定总酚、总黄酮的含量。以液料比、提取温度、乙醇体积分数、提取时间为考察因素, 以总酚、总黄酮提取率的综合评分为评价指标, 采用Box-Behnken响应面法优选最佳提取工艺, 并进行验证试验。结果 最佳提取工艺为液料比23倍, 提取温度46℃, 乙醇体积分数60%, 提取时间50 min, 提取2次。此工艺条件下, 总酚、总黄酮提取率分别为10.08%和8.28%, RSD分别为1.27%和1.42%(n=3), 综合评分为98.62。结论 该提取工艺稳定、可行, 可用于贯叶金丝桃中总酚和总黄酮的提取。

**关键词:** Box - Behnken 响应面法; 贯叶金丝桃; 总酚; 总黄酮; 提取工艺

### Optimization of Extraction Process of Total Phenols and Total Flavonoids from *Hyperici Perforati Herba* by the Box - Behnken Response Surface Methodology

ZHOU Kun, MA Liang<sup>△</sup>, LIU Chunfang, GUO Yuehan, CHEN Hui

(Wuhan Mental Health Center · Wuhan Psychological Hospital, Wuhan, Hubei 430012, China)

**Abstract: Objective** To optimize the extraction process of total phenols and total flavonoids from *Hyperici Perforati Herba*. **Methods** The NaNO<sub>2</sub> - Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> - NaOH method and Folin - Ciocalteu reagent method were used to determine the content of total phenols and total flavonoids by the ultraviolet spectrophotometry at wavelengths of 760 nm and 510 nm, respectively. With the liquid - to - material ratio, extraction temperature, ethanol volume fraction, and extraction time as the evaluation factors, and with the comprehensive score of the extraction rates of total phenols and total flavonoids as the evaluation index, the Box - Behnken response surface methodology was used to optimize the extraction process, and the validation test was conducted. **Results** The optimal extraction process was as follows: the liquid - to - material ratio was 23 : 1, the extraction temperature was 46 °C, the ethanol volume fraction was 60%, and the extraction time was 50 min with two extraction times. Under this extraction process condition, the extraction rates of total phenols and total flavonoids were 10.08% and 8.28%, with RSDs of 1.27% and 1.42% (n = 3), respectively, and the comprehensive score was 98.62. **Conclusion** The extraction process is stable and feasible, which can be used for the extraction of total phenols and total flavonoids from *Hyperici Perforati Herba*.

**Key words:** Box - Behnken response surface methodology; *Hyperici Perforati Herba*; total phenols; total flavonoids; extraction process

贯叶金丝桃为藤黄科植物贯叶金丝桃 *Hypericum perforatum* L. 的干燥地上部分<sup>[1]</sup>, 主要分布于我国的甘肃、陕西、新疆、四川等地<sup>[2]</sup>, 国内又名贯叶连翘、千层楼、小对叶草、赶山鞭等, 国外被称为圣约翰草。传统中

医认为, 贯叶金丝桃有清热解毒、收敛止血、调经通乳、利湿消肿等功效<sup>[3]</sup>。近代药理学研究表明, 贯叶金丝桃不仅有抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、镇痛、镇静、抗炎、促进伤口愈合等功效, 还有较好抗抑郁作用<sup>[4-7]</sup>。临床研究

\*基金项目: 湖北省武汉市自然科学基金探索计划(晨光计划)项目[2024040801020382]; 湖北省武汉市医学科研项目[WZ20Q02]。

第一作者: 周坤, 男, 硕士, 主管药师, 研究方向为中药及天然产物活性成分, (电子信箱)zhouk370@163.com。

<sup>△</sup>通信作者: 马良, 男, 博士, 副主任药师, 研究方向为中药及天然产物活性成分, (电子信箱)ma6025343@163.com。

- Effects on NonAlcoholic Fatty Liver Disease via Modulating gut Microbiome and Suppressing the Lipopolysaccharide - Toll - Like Receptor 4 - MyD - Nuclear Factor - κB - Nod - Like Receptor Protein 3 Pathway via gut - Liver Axis in Mice[J]. *Fron Pharmacol*, 2020, 11: 558525.
- [36] TARU V, SZABO G, MEHAL W, et al. Inflammasomes in chronic liver disease: Hepatic injury, fibrosis progression and systemic inflammation[J]. *J Hepatol*, 2024, 81(5): 895 - 910.
- [37] WU SL, WEI TY, LIN SW, et al. Metabolomics Investigation of Voriconazole - Induced Hepatotoxicity in Mice[J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(9): 1840 - 1849.
- [38] WU SL, CHENG CN, WANG CC, et al. Metabolomics analysis of plasma reveals voriconazole - induced hepatotoxicity is associated with oxidative stress[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 403: 115157.

(收稿日期: 2025 - 01 - 11; 修回日期: 2025 - 11 - 06)

证实,贯叶金丝桃治疗中、轻度抑郁症的效果良好,且不良反应较传统抗抑郁药物更轻,目前已有含贯叶金丝桃的抗抑郁中成药制剂(如疏肝解郁胶囊、脑力静胶囊、路优泰等)应用于临床。有研究发现,贯叶金丝桃主要含苯并二萜酮类<sup>[8]</sup>(如金丝桃素、伪金丝桃素、异金丝桃素等),黄酮类<sup>[9]</sup>(如芦丁、槲皮素、金丝桃苷等),间苯三酚类<sup>[10]</sup>(如贯叶金丝桃素、加贯叶金丝桃素),挥发油<sup>[11]</sup>,氨基酸类<sup>[12]</sup>等活性成分。其中,金丝桃苷、贯叶金丝桃素、加贯叶金丝桃素等活性成分遇光、热均不稳定,易氧化分解<sup>[13-14]</sup>,给活性成分的分离、纯化带来了挑战,故选择合适的提取方法保留总酚、总黄酮等活性成分对贯叶金丝桃的综合开发、利用具有实际意义。为此,本研究中采用Box - Behnken响应面法优选了贯叶金丝桃中总酚和总黄酮的提取工艺。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

UV - 3200型紫外 - 可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);KQ - 250E型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司,功率为250 W,频率为40 kHz);CP225D型电子分析天平(精度为0.01 mg),ALC - 210.2型电子天平(精度为0.01 g),均购自赛多利斯科学仪器 <北京>有限公司;XMTD - 2M型恒温电子数显水浴锅(天津泰斯特仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

贯叶金丝桃(河北涉县以岭燕赵中药材有限公司,批号为202309276);没食子酸对照品(批号为10831 - 202206,纯度大于99.5%),芦丁对照品(批号为100080 - 202211,纯度大于98.5%),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙醇、亚硝酸钠( $\text{NaNO}_2$ )、硝酸铝 $[\text{Al}(\text{NO}_3)_3]$ 、氢氧化钠( $\text{NaOH}$ )均为分析纯,水为蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 紫外 - 分光光度法测定总酚与总黄酮含量

#### 2.1.1 检测波长

总酚:760 nm;总黄酮:510 nm。

#### 2.1.2 溶液制备

分别取50℃减压干燥至恒定质量的没食子酸、芦丁对照品各适量,精密称定,分别置50 mL容量瓶中,加甲醇适量,超声(功率为240 W,频率为45 kHz)使溶解,分别加甲醇制成每1 mL含205 μg没食子酸、305 μg芦丁的对照品贮备液。

取贯叶金丝桃药材粉末(过2号筛)1.0 g,精密称定,置50 mL具塞锥形瓶中,加乙醇超声提取,放冷,滤过,取滤液,转移至50 mL容量瓶中,加乙醇定容,即得供试品溶液。

#### 2.1.3 显色方法

总酚<sup>[15-16]</sup>:采用福林酚(Folin - Ciocalte)试剂法显色。分别精密吸取2.1.2项下没食子酸对照品贮备液、供试品溶液各1.0 mL,分别置25 mL具塞比色管中,加蒸馏水5 mL、福林酚试剂1.5 mL,摇匀,避光反应1 min,再加10% $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液4 mL,加水定容,密塞,摇匀,40℃水浴恒温避光反应90 min,取出,即得。

总黄酮<sup>[17-18]</sup>:采用 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ 法显色。分别精密吸取2.1.2项下芦丁对照品贮备液、供试品溶液各1.0 mL,分别置25 mL具塞比色管中,加水至10 mL,加5% $\text{NaNO}_2$ 溶液1 mL,混匀,放置5 min,加10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液1 mL,摇匀,放置5 min,加4% $\text{NaOH}$ 溶液10 mL,加水定容,密塞,摇匀,放置15 min,即得。

#### 2.1.4 方法学考察

线性关系考察:分别精密量取2.1.2项下没食子酸、芦丁对照品贮备液各1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 10.0 mL,分别置25 mL具塞比色管中,按2.1.3项下方法显色,即得系列质量浓度的没食子酸、芦丁对照品溶液,分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度。以对照品溶液的质量浓度( $C$ , μg/mL)为横坐标、吸光度值( $A$ )为纵坐标进行线性回归,分别得回归方程 $A_{\text{没}} = 13.1452 C_{\text{没}} - 0.0027$ 和 $A_{\text{芦}} = 15.9791 C_{\text{芦}} - 0.0057$ ( $r = 0.9997, 0.9998, n = 5$ )。结果表明,没食子酸、芦丁的质量浓度分别在8.20~82.0 μg/mL、12.20~122.0 μg/mL范围内与各自吸光度值线性关系良好。

精密度试验:分别量取2.1.2项下没食子酸对照品贮备液(质量浓度为205 μg/mL)、芦丁对照品贮备液(质量浓度为305 μg/mL)各4.0 mL,分别置25 mL具塞比色管中,按2.1.3项下方法显色,分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度。结果的RSD分别为1.19%和1.36%( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.1.2项下供试品溶液1.0 mL,平行2份,分别置25 mL具塞比色管中,按2.1.3项下方法显色,分别于显色后0, 15, 30, 45, 60 min时于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度。结果的RSD分别为1.38%和1.39%( $n = 10$ ),表明供试品溶液显色后放置60 min内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为202309276)适量,平行6份,更换试验组内其他操作人员,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,取1.0 mL,各平行2份,按2.1.3项下方法显色,分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度,代入回归方程计算样品中没食子酸、芦丁的含量。结果的RSD分别为1.65%和1.56%( $n = 12$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品粉末(过2号筛)

1.0 g, 精密称定, 平行6份, 分别按100%比例加没食子酸、芦丁对照品, 混匀, 按2.1.2项下方法制备供试品溶液, 取1.0 mL, 按2.1.3项下方法显色, 分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度, 代入回归方程计算回收率。结果平均回收率分别为99.81%和99.64%, RSD均为1.31% ( $n=6$ ), 表明方法准确度良好。

### 2.1.5 样品含量测定

精密量取供试品溶液1.0 mL, 平行2份, 按2.1.3项下方法显色, 分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度, 代入回归方程计算含量。

### 2.2 总酚与总黄酮提取率测定

按如下公式计算贯叶金丝桃中总酚、总黄酮的提取率( $Y$ ),  $X=C \cdot V \cdot f$ ,  $Y(\%) = (X/m) \times 100\%$ 。式中,  $X$ 为提取液中总酚、总黄酮的含量(以没食子酸、芦丁计, mg);  $C$ 为供试品溶液中没食子酸、芦丁的质量浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ );  $V$ 为定容后体积(mL);  $f$ 为稀释倍数;  $m$ 为贯叶金丝桃饮片的取样量(g)。

### 2.3 综合评分计算

采用加权评分法计算总酚、总黄酮提取率的综合评分, 综合评分 = 总酚提取率评分 + 总黄酮提取率评分, 提取率评分 = (提取率 / 提取率<sub>max</sub>) × 50。

### 2.4 单因素考察

液料比: 取贯叶金丝桃饮片粉末(过2号筛)1.0 g, 精密称定, 平行5份, 分别置50 mL具塞锥形瓶中, 分别加15, 20, 25, 30, 35倍量65%乙醇溶液, 50 °C温度下提取60 min, 按2.1.2项下方法制备供试品溶液, 按2.1.3项下方法显色, 分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度, 代入回归方程计算总酚、总黄酮的含量, 考察液料比对总酚、总黄酮提取率综合评分的影响。结果液料比为15~25倍时, 总酚、总黄酮提取率的综合评分呈上升趋势; 液料比大于25倍时, 总酚、总黄酮提取率的综合评分呈下降趋势。综合考虑, Box - Behnken响应面法试验设计液料比的中心点选择25倍。详见图1 A。

提取温度: 取贯叶金丝桃饮片粉末(过2号筛)1.0 g,

精密称定, 平行4份, 分别置50 mL具塞锥形瓶中, 加25倍量65%乙醇溶液, 分别于40, 50, 60, 70 °C温度下提取60 min, 按2.1.2项下方法制备供试品溶液, 按2.1.3项下方法显色, 分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度, 代入回归方程计算总酚、总黄酮的含量, 考察提取温度对总酚、总黄酮提取率综合评分的影响。结果提取温度为40~55 °C时, 总酚、总黄酮提取率的综合评分呈上升趋势; 提取温度高于55 °C时, 总酚、总黄酮提取率的综合评分呈下降趋势, 表明提取温度高于55 °C, 总酚、总黄酮可能受热氧化、分解导致综合评分下降。综合考虑, Box - Behnken响应面法试验设计提取温度中心点选择55 °C。详见图1 B。

乙醇体积分数: 取贯叶金丝桃饮片粉末(过2号筛)1.0 g, 精密称定, 平行4份, 分别置50 mL具塞锥形瓶中, 加25倍体积分数分别为45%, 60%, 75%, 90%的乙醇溶液, 55 °C温度下提取60 min, 按2.1.2项下方法制备供试品溶液, 按2.1.3项下方法显色, 分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度, 代入回归方程计算总酚、总黄酮的含量, 考察乙醇体积分数对总酚、总黄酮提取率综合评分的影响。结果乙醇体积分数为45%~60%时, 总酚、总黄酮提取率的综合评分呈上升趋势; 乙醇体积分数为65%时, 总酚、总黄酮提取率的综合评分最高, 之后呈下降趋势, 表明贯叶金丝桃中总酚、总黄酮主要以酚苷类、黄酮苷类等极性大分子形式存在。综合考虑, Box - Behnken响应面法试验设计乙醇体积分数中心点选择60%。详见图1 C。

提取时间: 取贯叶金丝桃饮片粉末(过2号筛)1.0 g, 精密称定, 平行5份, 分别置50 mL具塞锥形瓶中, 加25倍60%乙醇溶液, 55 °C温度下分别提取30, 45, 60, 75, 90 min, 按2.1.2项下方法制备供试品溶液, 按2.1.3项下方法显色, 分别于760 nm和510 nm波长处测定没食子酸、芦丁的吸光度, 代入回归方程计算总酚、总黄酮的含量, 考察提取时间对总酚、总黄酮提取率综合评分的影响。结果提取时间为30~60 min时, 总酚、总黄酮提取率的综合评分呈上升趋势; 提取时间大

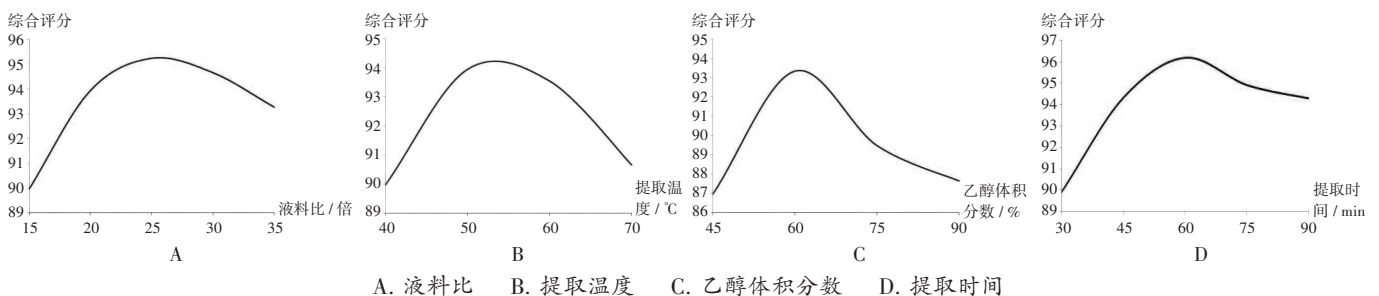


图1 单因素试验考察结果

A. Liquid - to - material ratio B. Extraction temperature C. Ethanol volume fraction D. Extraction time

Fig. 1 Results of the single factor test

于60 min时,总酚、总黄酮提取率综合评分无明显变化,表明大部分总酚、总黄酮类成分提取60 min已提取完全。综合考虑,Box - Behnken响应面法试验设计提取时间中心点选择60 min。详见图1 D。

## 2.5 Box - Behnken 响应面法优选总酚与总黄酮提取工艺

### 2.5.1 试验设计<sup>[19-20]</sup>

鉴于提取工艺中提取次数为非连续型变量,结合生产成本及文献[20-21],暂定提取次数为2次。以液料比(因素A)、提取温度(因素B)、乙醇体积分数(因素C)、提取时间(因素D)为考察因素,以总酚、总黄酮提取率的综合评分为评价指标,采用Box - Behnken响应面法优选提取工艺。根据Box - Behnken响应面法中心组合原理,在4个因素的中心点各设定低、中、高3个水平,依次赋值为-1, 0, +1。因素与水平见表1,试验设计与结果见表2。

表1 因素与水平

Tab. 1 Factors and their levels

水平	因素A(倍)	因素B(°C)	因素C(%)	因素D(min)
-1	20	45	50	45
0	25	55	60	60
+1	30	65	70	75

### 2.5.2 模型拟合与方差分析

回归方程:采用Design - Expert 8.06软件对表2中的数据进行多元线性回归分析,得液料比(因素A)、提取温度(因素B)、乙醇体积分数(因素C)、提取时间(因素D)与综合评分(Y)的多元线性回归方程 $Y = 97.37 - 1.25A - 2.00B - 2.93C + 0.93D - 1.34AB - 2.33AC + 3.07AD - 4.75BC + 0.88BD - 0.80CD - 5.56A^2 + 2.13B^2 - 9.03C^2 - 4.72D^2$ 。

方差分析:结果见表3。可见,模型的平方和为1172.75,  $F = 40.62, P < 0.0001$ ,表明建立的模型具有显著性;因素A、因素B、因素C、因素D的P值均小于0.05, F值均大于5.00,表明所选取的4个因素均对综合评分有显著影响,影响程度从大至小依次为乙醇体积分数 > 提取温度 > 液料比 > 提取时间;多元线性回归方程中, A, B, C, D, AC, AD, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, D<sup>2</sup> 11项变量对综合评分的线性效应均显著( $P < 0.05$ );多元线性回归方程一次项中,液料比、提取温度、乙醇体积分数对综合评分的影响均呈负相关,提取时间呈正相关;多元线性回归方程二次项中, A<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, D<sup>2</sup>对综合评分的影响均呈负相关, B<sup>2</sup>呈正相关,其中以乙醇体积分数的影响最显著,液料比次之;多元线性方程交互项中, AD, BD对综合评分的影响均呈正相关, AB, AC, BC, CD均呈负相关,其中以BC对综合评分的影响最显著, AD次之。

表2 Box - Behnken 响应面法试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of the Box - Behnken response surface methodology

序号	因素A	因素B	因素C	因素D	提取率(%)		综合评分
					总酚	总黄酮	
1	-1	0	0	-1	10.01	7.03	90.77
2	0	1	-1	0	9.31	8.35	95.24
3	0	1	0	-1	8.85	7.87	90.13
4	1	0	-1	0	7.57	8.23	86.03
5	0	-1	1	0	9.33	8.19	94.38
6	0	1	1	0	9.44	5.82	80.77
7	1	-1	0	0	10.10	7.95	96.70
8	0	0	-1	-1	8.68	7.28	85.78
9	0	1	0	1	9.72	7.75	93.66
10	0	0	1	-1	9.13	5.71	78.61
11	-1	0	-1	0	9.31	6.85	86.29
12	-1	1	0	0	10.04	7.71	94.98
13	1	0	0	-1	7.76	7.52	82.72
14	1	0	1	0	8.24	5.72	74.32
15	0	0	1	1	9.67	6.20	84.16
16	1	1	0	0	9.69	7.43	91.60
17	-1	0	0	1	7.57	7.97	84.48
18	0	-1	-1	0	8.62	8.01	89.84
19	0	-1	0	-1	10.08	8.08	97.38
20	0	0	-1	1	8.17	8.09	88.12
21	-1	0	1	0	10.25	5.68	83.89
22	1	0	0	1	8.17	8.19	88.72
23	0	-1	0	1	9.62	8.22	95.97
24	-1	-1	0	0	9.57	8.05	94.71
25~29	0	0	0	0	9.71	8.38	97.37

各影响因素交互作用的响应面图:由表3可见,本研究中的模型 $P < 0.0001$ ,失拟项的离差平方和为28.87,失拟项的 $P > 0.05$ ,表明模型拟合度较高,不存在显著失拟,试验测定值与模型预测值较接近,模型具有较好预测性,4个自变量(液料比、提取温度、乙醇体积分数、提取时间)与因变量(总酚、总黄酮提取率的综合评分)间的线性关系可用该模型进行描述;决定系数 $R^2 = 0.9879, R = 99.40%$ ,表明有99.40%提取率综合评分的变差归因于以上4个自变量,仅存在0.60%的可能变差不被该多元线性回归方程所解释<sup>[19]</sup>。将以上数据代入Design - Expert 8.06软件,由软件导出液料比、提取温度、乙醇体积分数、提取时间对总酚、总黄酮提取率综合评分影响的三维响应面图。可见,提取时间与液料比、乙醇体积分数与液料比、提取时间与乙醇体积分数、提取时间与提取温度、乙醇体积分数与提取温度、提取温度与液料比的三维响应面图均为开口向下、陡峭的凸面,

表3 方差分析结果

Tab. 3 Results of the ANOVA

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	1 172.75	14	83.77	40.62	<0.000 1
A	18.82	1	18.82	9.13	0.009 2
B	48.04	1	48.04	23.30	0.000 3
C	103.04	1	103.04	49.97	<0.000 1
D	10.31	1	10.31	5.00	0.042 1
AB	7.21	1	7.21	3.50	0.082 6
AC	21.67	1	21.67	10.51	0.005 9
AD	37.76	1	37.76	18.31	0.000 8
BC	90.25	1	90.25	43.77	<0.000 1
BD	3.13	1	3.13	1.52	0.238 0
CD	2.57	1	2.57	1.25	0.283 0
A <sup>2</sup>	200.56	1	200.56	97.26	<0.000 1
B <sup>2</sup>	29.48	1	29.48	14.30	0.002 0
C <sup>2</sup>	529.37	1	529.37	256.71	<0.000 1
D <sup>2</sup>	144.75	1	144.75	70.19	<0.000 1
残差	28.87	14	2.06		
失拟项	28.87	10	2.89	0.29	0.330 0
误差	0.000	4	0.000		
总离差	1 201.62	28			

表明选定因素的考察水平范围内存在响应值的最大值;各自对应的三维响应面为高度卷曲的曲面,表明自变量与因变量间的函数关系并非单纯的一元线性关系,采用多元线性回归方程描述液料比、提取时间、乙醇体积分

数、提取温度与综合评分间的线性关系可能更合理。详见图2。采用 Design - Expert 8.06 软件分析数据,预测推荐的最优提取工艺为液料比22.6倍,提取温度45.8℃,乙醇体积分数59.4%,提取时间49.9 min。该条件下理论最优评分为98.44,总酚提取率为9.91%,总黄酮提取率为8.39%。为方便实际操作,将该工艺参数调整为液料比23倍,提取温度46℃,乙醇体积分数60%,提取时间50 min进行验证试验。

### 2.5.3 验证试验

取贯叶金丝桃饮片粉末(过2号筛)5.0 g,精密称定,平行3份,加23倍60%乙醇溶液,46℃温度下提取2次,每次50 min,按2.1项下方法测定总酚、总黄酮含量,按2.2项下公式计算提取率,按2.3项下公式计算综合评分。结果总酚、总黄酮的提取率分别为10.08%和8.28%,RSD分别为1.27%和1.42%(n=3),综合评分为98.62,与预测值基本接近,表明该模型预测的准确性良好。

### 3 讨论

正交试验设计是一种对孤立的试验点进行优化的多变量系统试验设计,试验结果仅能给出最佳因素水平组合,无法对处于因素水平间的区域给出优化值,即优化的最终结果为因素、水平间的组合,而非优化工艺参数实际值<sup>[19-20]</sup>。而响应面法通过对响应面等值线的分析寻求最优工艺参数,将多因素试验中自变量与因变量的相互关系用二次多项式曲线拟合方程呈现,在

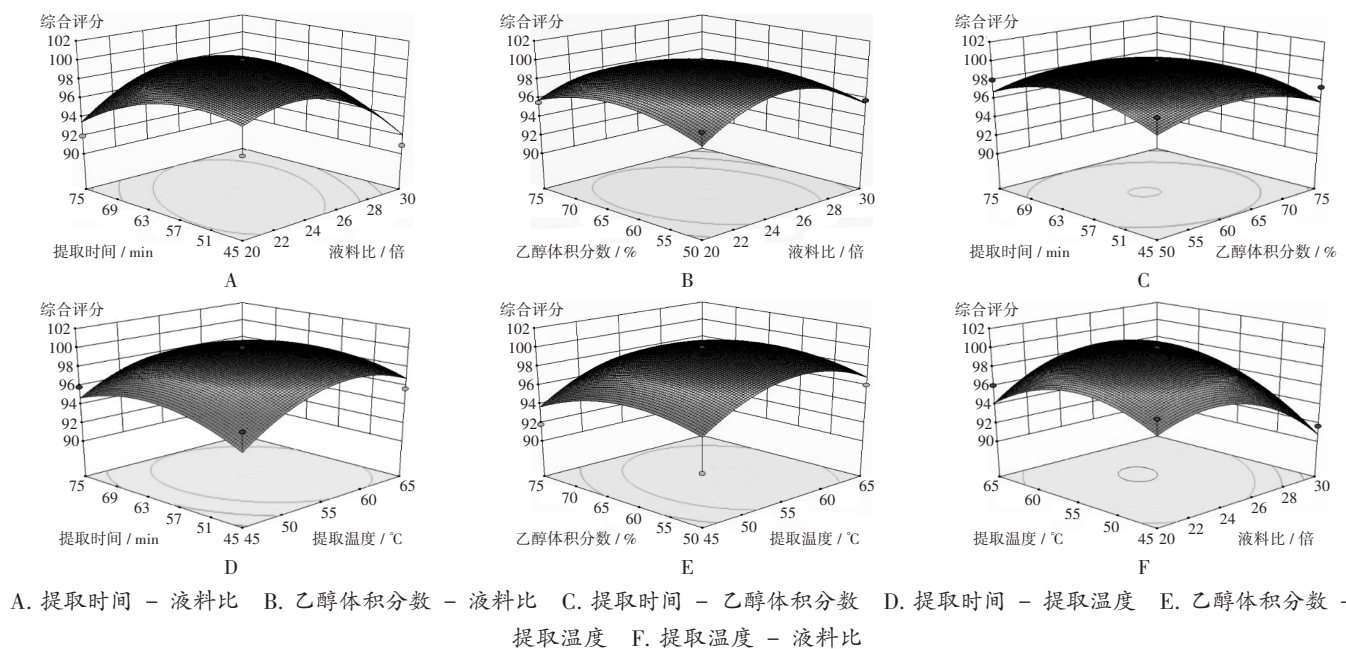


图2 各影响因素交互作用对综合评分影响的三维响应面图  
A. Extraction time - liquid - to - material ratio B. Ethanol volume fraction - liquid - to - material ratio C. Extraction time - ethanol volume fraction D. Extraction time - extraction temperature E. Ethanol volume fraction - extraction temperature F. Extraction temperature - liquid - to - material ratio

Fig. 2 3D - response surface map of the interaction effects of various influencing factors on the comprehensive score

试验条件优选过程中,可连续对各水平进行分析,能找出整个区域因素的最佳组合(优化结果为因素、水平下的实际值)和响应值的预测最优值<sup>[19-20]</sup>。目前,贯叶金丝桃提取工艺研究多以金丝桃苷、金丝桃素、总黄酮等作为单一评价指标,但并未考虑贯叶金丝桃素、加贯叶金丝桃素等总酚类活性成分,且上述总酚类活性成分(贯叶金丝桃素、加贯叶金丝桃素)与黄酮类活性成分(槲皮素、金丝桃苷)遇光和热均不稳定,易氧化分解,提取过程中极易受热破坏其活性结构,故提取过程中选取更全面的评价指标及最大限度地保留其活性是提取工艺的关键。故本研究中选择具有提取效率高、相对温和、环保能耗低、溶剂损失少等特点的超声波辅助提取法提取总酚、总黄酮,以二者提取率的综合评分为评价指标,通过单因素试验获取关键因素中心点,进一步采用Box-Behnken响应面法优选提取工艺。

多元线性回归方程一次项中,提取时间对综合评分的影响呈正相关,液料比、提取温度、乙醇体积分数对综合评分的影响均呈负相关,其中以乙醇体积分数的影响最显著,提取温度次之,表明贯叶金丝桃中总酚、总黄酮主要以极性大分子形式存在,且对提取温度较敏感。为获得较好的总酚、总黄酮提取率的综合评分,乙醇体积分数、提取温度应严格控制在合理范围内。二次项中, $B^2$ 对综合评分的影响呈正相关,表明在一定水平范围内,提高提取温度有利于总酚、总黄酮的提取;尽管 $A^2$ , $C^2$ , $D^2$ 对综合评分的影响均呈负相关,但其线性效应均高度显著( $P < 0.01$ ,  $F > 50$ ),其中以乙醇体积分数的影响最大,液料比次之,提取时间最小,表明乙醇体积分数是提取过程中影响较大的因素,提取过程中应严密监控。交互项中, $AB$ , $AC$ , $BC$ , $CD$ 对综合评分的影响均呈负相关,表明以上因素的交互作用对综合评分存在不利影响,提取时应控制以上叠加因素在适当水平范围内。本次试验优化结果显示,控制液料比21~24倍,提取温度45~55℃,乙醇体积分数55%~60%,提取时间超过50 min时综合评分均大于95。最终优选贯叶金丝桃中总酚、总黄酮提取工艺条件为液料比23倍,提取温度46℃,乙醇体积分数60%,提取时间50 min,提取2次。按此工艺条件下制备3批样品,综合评分为98.62,与预测值(98.44)接近。

综上所述,本研究中优选的提取工艺稳定、可行,可用于贯叶金丝桃中总酚、总黄酮的提取。

#### 参考文献

[1] 高正涛,林萍燕,周美,等. 中医情志病抑郁障碍的发病机制及贯叶连翘在抗抑郁领域中的研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2024,45(16):1583-1586.  
[2] 陈万平. 贯叶连翘中金丝桃素提取纯化工艺及其抗氧化机理研究[D]. 兰州:兰州理工大学,2023.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:291.  
[4] MICHEL V, LAZARO E, FAUTHOUX T, et al. Systematic aetiological assessment of myocarditis: A prospective cohort study[J]. J Clin Med, 2024, 13(4): 1025.  
[5] XU C, SU W. Hyperforin modulates MAPK / CCL11 signaling to reduce the inflammatory response of nasal mucosal epithelial cells caused by allergic rhinitis by targeting BCL6[J]. Exp Ther Med, 2023, 26(6): 579.  
[6] LEE YY, YANG WK, HAN JE, et al. *Hypericum ascyron* L. extract reduces particulate matter - induced airway inflammation in mice [J]. Phytother Res, 2021, 35 (3): 1621 - 1633.  
[7] ELCANALE P, HALLY C, NONELL S, et al. Photodynamic action of *Hypericum perforatum* hydrophilic extract against *Staphylococcus aureus* [J]. Photochem Photobiol Sci, 2020, 19(3): 324 - 331.  
[8] 盛可心,王昊冉,徐凌川,等. 贯叶连翘药理作用及其机制研究新进展[J]. 中药药理与临床,2023,39(3):117-122.  
[9] 张岩,刘庆焯,王宏,等. 基于网络药理学和动物实验探讨贯叶金丝桃黄酮类成分对缺血性脑损伤的治疗作用[J]. 中成药,2023,45(9):3110-3115.  
[10] 梁君,王衍杰,胡国强. 贯叶金丝桃中一个新的间苯三酚及细胞毒活性研究[J]. 中药材,2023,46(3):635-639.  
[11] 王燕,问娟娟,周蕊,等. 贯叶连翘精油提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业,2023,44(11):77-82.  
[12] 传娟娟,李燕. 贯叶金丝桃(圣约翰草)的国内外研究概况[J]. 西北药学杂志,2016,31(3):330-332.  
[13] 金月,李富云,谢静,等. 贯叶连翘的历史沿革、化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源,2024,43(3):82-89.  
[14] 王璟. 贯叶连翘悬浮细胞培养生产黄酮类物质的研究[D]. 上海:华东理工大学,2015.  
[15] 贲锦华,彭欣雨,王嘉颖,等. 大曲发酵橄榄茶制备工艺的响应面优化及其抑制消化酶活性研究[J]. 食品科技,2024,49(12):63-69.  
[16] 雷露,许浩翔,李婷,等. 黄花梨蜂蜜与其他蜜源蜂蜜的抗氧化特性研究[J]. 轻工学报,2025,40(1):32-40.  
[17] 李传茂,邱志,王枫亮,等. 洋甘菊总黄酮提取及其抗氧化活性研究[J]. 日用化学工业,2024,54(9):1039-1049.  
[18] 魏姜勉. 刺槐花总黄酮微胶囊的制备及其储藏稳定性研究[J]. 粮食与油脂,2023,36(6):105-108.  
[19] 覃辉. 星点设计-响应面法优选苦参总生物碱水提醇沉工艺[J]. 中国现代中药,2019,21(8):1084-1088.  
[20] 周坤,付永莉,罗婷,等. Box-Behnken响应面法优选紫斑牡丹中丹皮酚和芍药苷提取工艺[J]. 中国药业,2024,33(3):68-73.  
[21] 吴斯宇,胡立志,唐聘,等. 清利咽喉方水提工艺的AHP-熵权法-独立性权法结合正交试验优化[J]. 时珍国医国药,2021,32(10):2400-2403.

(收稿日期:2025-05-09;修回日期:2025-10-02)